



TITLE:

生体膜脂質に作用する天然有機化合物の探索と生物活性発現機序に関する研究(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

杉山, 龍介

CITATION:

杉山, 龍介. 生体膜脂質に作用する天然有機化合物の探索と生物活性発現機序に関する研究. 京都大学, 2016, 博士(薬科学)

ISSUE DATE:

2016-03-23

URL:

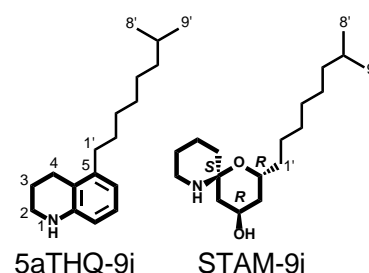
<https://doi.org/10.14989/doctor.k19672>

RIGHT:

学位規則第9条第2項により要約公開; 許諾条件により全文は2021-09-01に公開; 許諾条件により要旨は2016-05-01に公開

京都大学	博士（薬科学）	氏名	杉山 龍介
論文題目	生体膜脂質に作用する天然有機化合物の探索と生物活性発現機序に関する研究		
<p>（論文内容の要旨）</p> <p>生体膜は均一な構造ではなく微小な環境の集合体であり、微小環境では効果的なシグナル伝達や細胞骨格形成など、多くの生命現象が制御される。がんなどの疾患とも深く関連し、生体膜微小環境の形成・維持機構の解明は創薬の観点からも重要な課題といえる。しかし、遺伝学やX線結晶構造解析などの強力な解析法があるタンパク質と比べて、解析手段に乏しい膜脂質の理解は後れをとっているのが現状である。そこで本研究では、脂質に作用しユニークな生物活性を示す新しい低分子化合物を取得し、それらの作用機序解析を通じて生体膜脂質の機能理解を試みた。</p>			
<p>第一章 膜脂質に結合する天然有機化合物の探索</p> <p>脂質に結合する化合物は、特定の脂質代謝遺伝子を欠損する分裂酵母変異株に対して特徴的な生育阻害パターンを示す。この性質に着目し、脂質結合性を示す新しい天然物を約2,000の微生物培養液抽出物（ブロス）から探索した。ヒットブロスについて活性本体の単離・精製を行い、3種の新規物質（8-deoxyheronamide C, 5-alkyl-1,2,3,4-tetrahydroquinoline類, streptoaminal類）の取得に成功した。</p>			
<p>第二章 放線菌が産生するheronamide類に関する研究</p> <p>海洋由来放線菌のブロスを分画した結果、活性成分として新規ポリエンマクロラクタム8-deoxyheronamide C (8-dHC)が得られた。これは2010年に化学構造が報告されたheronamide類の類縁体であったが、8-dHCの構造解析の過程でheronamide類の報告構造に矛盾があることが判明した。そこでまず、スペクトル解析と化学変換からheronamide類の真の構造を明らかにした。次に、表面プラズモン共鳴（SPR）による標的脂質探索から、heronamide類が飽和アルキル鎖から成る脂質と特異的に結合することが示された。さらに、分裂酵母を用いた遺伝学的解析から、heronamide類は脂質ラフトの構造・機能を破綻させることで細胞壁異常を引き起こすことが示唆され、heronamide類が新しいタイプの脂質結合化合物であることを明らかにした。</p>			
<p>第三章 放線菌の複合培養液から得られる新規アルカロイド群に関する研究</p> <p>放線菌<i>Streptomyces nigrescens</i>と<i>Tsukamurella pulmonis</i>の共培養液からは、多様なアルキル鎖をもつ新規アルカロイド 5-alkyl-1,2,3,4-tetrahydroquinoline (5aTHQ)類を活性本体として見出した。精製に成功した8成分について、各種スペクトル解析と全合成から分子構造を決定したところ、5aTHQ類は既存の脂質結合化合物とは全く異なる構造を有することが明らかとなり、その活性発現機序に興味を持たれた。まず、分裂酵母のステロール生合成変異株に対する5aTHQ類の生育阻害活性を測定したと</p>			

ころ、脂質結合化合物に特徴的な阻害パターンが検出された。このとき、生育阻害の有効濃度や選択性はアルキル側鎖の構造に大きく依存した。続いて、Biacore T200を用いて人工膜との相互作用を検討すると、5aTHQ類はPOPCなどのホスファチジルコリンから成る脂質膜と強い結合を示した。脂質膜との親和性はリン脂質の不飽和度やステロールの有無にはほとんど影



響されなかったが、系中の5aTHQ類が一定濃度以下になると結合能は劇的に低下した。5aTHQ類の水溶液が一定濃度以上で特徴的な光散乱を示したため、高濃度の5aTHQ類はミセル等の会合体を形成すると予想された。この濃度域と生育阻害を示す濃度域に相関が見られたことから、会合体の形成が5aTHQ類の生物活性において重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

ところで、2種類の細菌を複合培養した場合のみ5aTHQ類が生産されるという実験事実は、複合培養によって未発見化合物の生産能が上昇する可能性を支持した。そこでLC-MSによる代謝物解析を行った結果、5aTHQ類と同様のアルキル側鎖パターンをもつ別の化合物群が見出された。精製に成功した3成分について構造解析を行ったところ、特異なスピロ構造を有する新規環状ヘミアミナル群であった。3か所の不斉炭素の絶対立体化学は、化学変換とNMR解析、および全合成により決定した。Streptoaminal (STAM)類と命名したこの化合物群は、脂質との結合能はほとんど無かったが、様々な微生物に対して抗菌活性を示した。また、*S. nigrescens*のドラフトゲノムから5aTHQ類・STAM類の生合成遺伝子クラスターを見出し、¹³C標識実験の結果と合わせて、両者がポリケチド合成酵素によって生産されることを明らかにした。以上より、5aTHQ類・STAM類は異なる骨格構造・生物活性をもつ化合物群でありながら、複合培養条件に応答する同一の生合成酵素群によって生産制御されるという興味深い結果が得られた。

第四章 総括

本研究では、生体膜脂質に結合する天然物を探索し、ユニークな構造・活性をもつ3種の新規化合物群の取得に成功した。Heronamide類に関する研究成果は、多様な生物活性を示すポリエンマクロラクタム類の分子メカニズムに迫る初の報告である。また、5aTHQ類については、細胞膜と作用する際に会合体形成が重要という、ほとんど前例の無い作用様式を明らかにしつつある。これらの化合物について生物活性発現機序の解明をさらに推し進めることで、生体膜脂質の機能を解析するツールとしての応用が可能になり、細胞膜を標的とした創薬へのヒントが得られると期待される。

(論文審査の結果の要旨)

著者は、生体膜脂質に作用しユニークな生物活性を示す新しい低分子化合物を取得し、それらの作用機序解析を通じて生体膜脂質の機能解析を行った。

すなわち、著者は、特定の脂質代謝遺伝子を欠損する分裂酵母変異株に対して特徴的な生育阻害パターンを示すという現象を利用した独自の探索系を確立し後、脂質結合性を示す新しい天然物を約2,000の微生物培養液抽出物（ブロス）から探索し、ヒットブロスについて活性本体の単離・精製を行い、3種の新規物質（8-deoxyheronamide C, 5-alkyl-1,2,3,4-tetrahydroquinoline類, streptoaminal類）の取得に成功した。海洋由来放線菌のブロスからは、活性成分として新規ポリエンマクロラクタム8-deoxyheronamide C (8-dHC)を取得し、既報のheronamide類の立体化学の修正も行った。さらに、表面プラズモン共鳴（SPR）による標的脂質探索から、heronamide類が飽和アルキル鎖から成る脂質と特異的に結合することを明らかにするとともに、分裂酵母を用いた遺伝学的解析から、heronamide類は脂質ラフトの構造・機能を破壊させることで細胞壁異常を引き起こすことを示し、heronamide類が新しいタイプの脂質結合化合物であることを明らかにした。

一方著者は、放線菌*Streptomyces nigrescens*と*Tsukamurella pulmonis*の複合培養液からは、多様なアルキル鎖をもつ新規アルカロイド 5-alkyl-1,2,3,4-tetrahydroquinoline (5aTHQ)類を活性本体として見出した。分裂酵母のステロール生合成変異株に対する5aTHQ類の生育阻害活性を測定した結果、脂質結合化合物に特徴的な阻害パターンを検出し、興味深い構造活性相関を明らかにした。続いて、Biacore T200を用いて人工膜との相互作用を検討した結果、5aTHQ類はPOPCなどのホスファチジルコリンから成る脂質膜と強い結合を示すことを明らかにした。さらに、系中の5aTHQ類が一定濃度以下になると結合能が劇的に低下することも見出し、会合体の形成が5aTHQ類の生物活性において重要な役割を果たしている可能性を示した。

最後に、著者は、5aTHQs生産菌ブロスから、特異なスピロ構造を有する新規環状ヘミアミナル群Streptoaminal (STAM)類を見出し、化学変換とNMR解析、および全合成により全立体化学の決定に成功した。STAM類は、脂質との結合能はほとんど無かったが、様々な微生物に対して抗菌活性を示した。また、*S. nigrescens*のドラフトゲノムから5aTHQ類・STAM類の生合成遺伝子クラスターを見出し、¹³C標識実験の結果と合わせて、両者が共通のポリケチド合成酵素によって生産されることを明らかにした。

以上のように、著者は、生体膜脂質に結合する天然物を探索し、ユニークな構造・活性をもつ3種の新規化合物群の取得に成功した。Heronamide類に関する研究成果は、多様な生物活性を示すポリエンマクロラクタム類の分子メカニズムに迫る画期的な成果である。また、5aTHQ類については、細胞膜と作用する際に会合体形成が重要であるという興味深い作用様式を提示した。これらの化合物群について生物活性発現機序の解明をさらに推し進めることで、生体膜脂質の機能を解析する有用なツールとして

の応用が可能になり、細胞膜を標的とした創薬への貢献が期待される。

よって、本論文は博士（薬科学）の学位論文として価値あるものと認める。また、平成28年2月29日、論文内容とそれに関連した事項について試問を行った結果、合格と認めた。

なお、本論文は、京都大学学位規程第14条第2項に該当するものと判断し、公表に際しては、当分の間、当該論文の全文に代えてその内容を要約したものとすることを認める。

要旨公表可能日：2016年 6月 22日以降